Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

Nukleinsäuren- und Hämoglobingehalt bei Eisenmangelanämie, sideroachrestischer und perniciöser Anämie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Lothar Mack
aus Schwäbisch Gmünd

1977

Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

Nukleinsäuren- und Hämoglobingehalt bei Eisenmangelanämie, sideroachrestischer und perniciöser Anämie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Lothar Mack
aus Schwäbisch Gmünd

1977

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. R. Lempp
1. Berichterstatter: Professor Dr. D. Müller
2. Berichterstatter: Professor Dr. H. D. Waller

INHALTSÜBERSICHT

A. Übersicht über den Ablauf der Blutbildung
1. Hämatopoese
2. Erythropoese

B. Quantitative Veränderungen des Nukleinsäuren- und Hämoglobingehalts in der Erythropoese
1. Veränderungen in der normalen Erythropoese
2. Untersuchung der pathologischen Erythropoese

C. Methodik
1. Beschreibung des Untersuchungsganges
2. Fehlerdiskussion
3. Patientengut

D. Befunde
1. Allgemeine Befunde
2. Eisenmangelanämie
3. Sideroachrestische Anämie
4. Perniciöse Anämie

E. Diskussion
1. Normale Erythropoese
2. Pathologische Erythropoese
a. Stammzellenumwandlung
b. Generationenfolge
c. Ribonukleinsäuresynthese
d. Hämoglobinsynthese
e. Hämoglobinsynthese in kleinen Erythroblasten

F. Zusammenfassung

G. Literatur

A. ÜBERSICHT ÜBER DEN ABLAUF DER BLUTBILDUNG

Das Organ der Blutbildung (Hämatopoese) ist das Knochenmark. Die Zellen dieses Organs wurden von den Zellforschern des vorigen Jahrhunderts nach ihrer Größe, Struktur und Färbbarkeit (in der PAPPENHEIM- Färbung) eingeteilt. Das Aussehen einer Knochenmarksstammzelle konnte jedoch bis heute experimentell noch nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

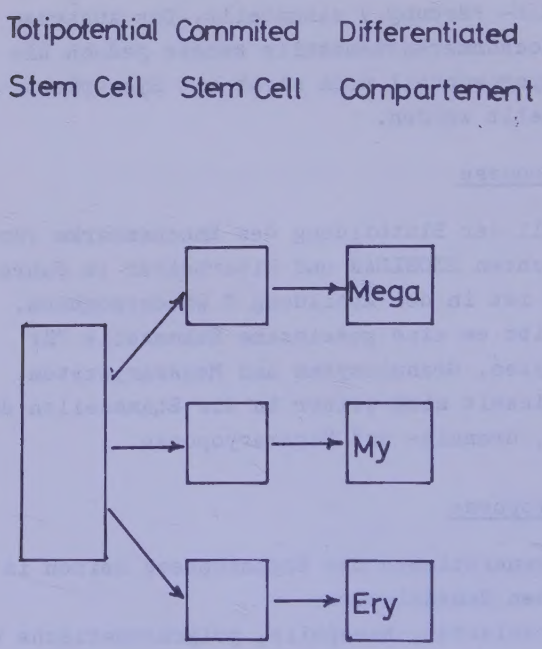
1. Hämatopoese

Ein Modell der Blutbildung des Knochenmarks veröffentlichten STOHLMAN und Mitarbeiter im Jahre 1968. Es ist in der Abbildung 1 wiedergegeben. Danach gibt es eine gemeinsame Stammzelle für Erythrozyten, Granulozyten und Megakaryozyten. Sie entwickelt sich weiter in die Stammzellen der Erythro-, Granulo- und Megakaryopoese.

2. Erythropoese

Die Zellgenerationen der Erythropoese heißen in der klassischen Nomenklatur:
Proerythroblasten, basophile, polychromatische und oxyphile Erythroblasten (BOLL 1972). Dabei nimmt die Zellgröße von Generation zu Generation ab. Die Reifestufe der oxyphilen Erythroblasten wird aber nach DÖRMER (1974) nicht von allen roten Knochenmarkzellen durchlaufen, vielmehr verliert ein Teil der Erythroblasten schon nach der dritten Reifungsstufe den Zellkern und wird ins Blut ausgeschwemmt. Auch nach MÜLLER et al. (1973) ist die Zahl der Reifungsstufen nicht konstant.

Abb. 1 : Modell der Hämatopoese nach STOHLMAN et al.
aus: Regulation of Erythropoiesis.
20. Kinetics of Red Cell Production.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 149: 156-72 (1968)



Mega = Megakaryozyten (Blutplättchen)
My = Myeloblasten (weiße Zellreihe)
Ery = Erythroblasten (rote Zellreihe)

Das Hormon Erythropoietin beschleunigt spezifisch die Erythropoese (zusammenfassende Arbeiten: FRIED 1973, KRANTZ 1973). Die Existenz dieses Hormons ist gesichert, der genaue Angriffspunkt wird noch diskutiert (HEGEMANN 1974, ZALUSKY et al. 1973). LINDEMANN (1971) und SHEKTER (1972) berichten von einem die Erythropoese inhibierenden Faktor. Dieser Faktor wird nicht von allen Autoren gefunden (ZIVNY et al. 1972). Bei der Regelung der Erythropoese spielen vielleicht auch nervale Einflüsse eine Rolle (SEGAL et al. 1971). Chalone sind Inhibitoren, die auf die Zellart zurückwirken, von der sie gebildet werden. Dadurch halten sie die Zahl der Zellen konstant. Wie in der Haut ist dieses Prinzip möglicherweise auch im Knochenmark verwirklicht (PAUKOVITS 1973).

B. QUANTITATIVE VERÄNDERUNGEN DES NUKLEINSÄUREN - UND HAEMOGLOBINGEHALTS IN DER ERYTHROPOESE

1. Veränderungen in der normalen Erythropoese

THORELL veröffentlichte 1947 die ersten quantitativen Befunde über Veränderungen des Nukleinsäuren - , Protein - und Hämoglobingehalts der Erythroblasten. Danach nimmt der Ribonukleinsäuren (RNS) - Gehalt mit zunehmender Zellreifung ab, der Hämoglobingehalt zu.

MÜLLER und Mitarbeiter haben in quantitativ - ultraviolettspektrophotometrischen Untersuchungen den RNS- und Hämoglobingehalt dem in einer Zelle vorhandenen Desoxyribonukleinsäuren (DNS) - Gehalt zugeordnet. Somit war es möglich, die Veränderungen der Zellbestandteile in verschiedenen Zyklusphasen (d.h. Phasen mit verschiedenem DNS - Gehalt) zu verfolgen. 1973 veröffentlichten MÜLLER et al. die Befunde der normalen Erythropoese, 1974 die Befunde bei hämolytischer Anämie, Thalassämie und akuter Blutungsanämie.

2. Untersuchung der pathologischen Erythropoese

Um die Veränderungen der Zellbestandteile in Beziehung zur Zellreifung in weiteren Beispielen der pathologischen Erythropoese zu erfassen, entstand die vorliegende Arbeit als Fortsetzung der obengenannten Untersuchungen von MÜLLER.

Die Veränderungen des Nukleinsäuren- und Hämoglobingehalts werden dargestellt bei je einem Patienten mit Eisenmangelanämie, sideroachrestischer Anämie und perniciöser Anämie. Die Befunde werden mit

Beobachtungen und Ergebnissen aus der neueren
Literatur verglichen und diskutiert.

C. METHODIK

1. Beschreibung des Untersuchungsganges

Durch Sternalpunktion gewonnenes Knochenmark wurde auf Quarzobjektträgern ausgestrichen, an der Luft getrocknet und in wasserfreies Glycerin eingedeckt. Die Erythroblasten wurden mit einem Spektralphotometer aufgesucht (Gerät UMSP 1 der Firma Carl Zeiss, Oberkochen). Eine Identifizierung der Zellen gelingt auch am ungefärbten Präparat. Die gefundenen Erythroblasten wurden von einem Bildschirm abgezeichnet und mit einem Planimeter ausgemessen. Über Zellkern und Zelleib der Erythroblasten wurden Absorptionsmessungen im ultravioletten Licht bei den Wellenlängen 265, 280, 313 und 416 vorgenommen, und die durchschnittliche Extinction über Kern und Plasma ermittelt.

Der Hämoglobingehalt und der Nukleinsäurengehalt wurden aufgrund der erhaltenen Extinctionswerte nach folgenden Formeln berechnet (MÜLLER et al. 1972, 1973):

$$\text{NS - Gehalt} = 0{,}92 \left(E_{265} - 0{,}75\, E_{280} - 0{,}25\, E_{313} \right)$$

$$\text{Hb - Gehalt} = 2 \left(E_{416} - \frac{313}{416} E_{313} \right) \text{ je } 10^{-12} \text{ g}$$

Die Werte wurden im Zentrum für Datenverarbeitung der Universität Tübingen von Herrn Dipl. Math. E. Hahn berechnet. Mit dem Computer wurden die verschiedenen Meßgrößen zueinander in Beziehung gesetzt (Abb. 4 - 12).

2. Fehlerdiskussion

Bei der Berechnung des Nukleinsäurengehalts treten folgende methodische Fehler auf: Die Nukleinsäurenabsorption über dem Zellkern setzt sich aus der DNS und RNS des Zellkerns und dem Eiweiß des überlappenden Zytoplasmas zusammen. Der Anteil der RNS muß nach SANDRITTER (1958) mit durchschnittlich 10 % angenommen werden. Wegen des relativ niedrigen Plasmaanteils ist der Anteil der Tyrosin- und Tryptophanabsorption bei der Wellenlänge 265 µm gering. Bei der Berechnung der Nukleinsäuren über dem Zellkern sind somit nur geringe methodische Fehler zu erwarten.

Bei der Berechnung des Gehalts zytoplasmatischer Substanzen muß die den Zellkern überlappende Zytoplasmakappe berücksichtigt werden. MÜLLER et al. (1973) berechneten die Hämoglobinkonzentration über den Kernarealen und konnten zeigen, daß der Fehler durch die Überlappung des Zytoplasmas vernachlässigbar ist. Die vergleichsweise niedrige RNS - Konzentration im Zytoplasma führt dagegen zu einem hohen methodischen Fehler bei der Proteinbestimmung aus der Absorption bei den Wellenlängen 265 und 280 µm. Der Proteingehalt der Erythroblasten wurde daher in der vorliegenden Untersuchung nicht bestimmt.

3. Patientengut

Gemessen wurden 400 Erythroblasten eines Patienten Mü mit Eisenmangelanämie (aus dem Stadtkrankenhaus Hof an der Saale, Professor Dr. D. Müller)
300 Erythroblasten eines Patienten Bin mit sideroachrestischer Anämie (Institut für Hämatologie München, Professor Dr. S. Thierfelder) und
400 Erythroblasten eines Patienten Sti mit perniciöser Anämie (aus der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen Abteilung 2, Professor Dr. H.- D. Waller).

Fall 1 : Eisenmangelanämie, Patient Mü.
Anamnese: Seit 9 Monaten verlor der Patient schnell an Gewicht, alle Speisen waren zuwider. Ab und zu Druckgefühl im Hals. Mußte zum Essen trinken, damit trockene Speisen besser rutschten. Seit 1/2 Jahr Durchfälle, starker Haarausfall, gelegentlich Herzklopfen. Einmal schleimig blutiger Stuhl. Zuweilen drückender Schmerz im rechten Unterbauch.
Befunde: Blasse Haut und blasse Schleimhäute.
Relativ guter Allgemeinzustand.
Keine medikamentöse Therapie.
3 Monate später Tod an Ileus. Autoptisch Adenocarcinom des Caecums.

Fall 2 : Sideroachrestische Anämie, Patient Bin.
Anamnese: Seit 1 Jahr Abnahme der Leistungsfähigkeit mit Schwindel, Kopfschmerzen und vermehrtem Schnaufen bei Belastung. Zwei Bluttransfusionen. Seit 1/2 Jahr Husten mit Auswurf. Vor 3 Monaten Magenblutung aufgrund eines Magengeschwürs.

Befunde: Blasse Haut und blasse Schleimhäute. Latenter Diabetes mellitus. In der Leberblindpunktion minimale Eisenspeicherung in den Hepatocyten.
Medikamente: Resoferix^{R}, Dioxanin^{R}.

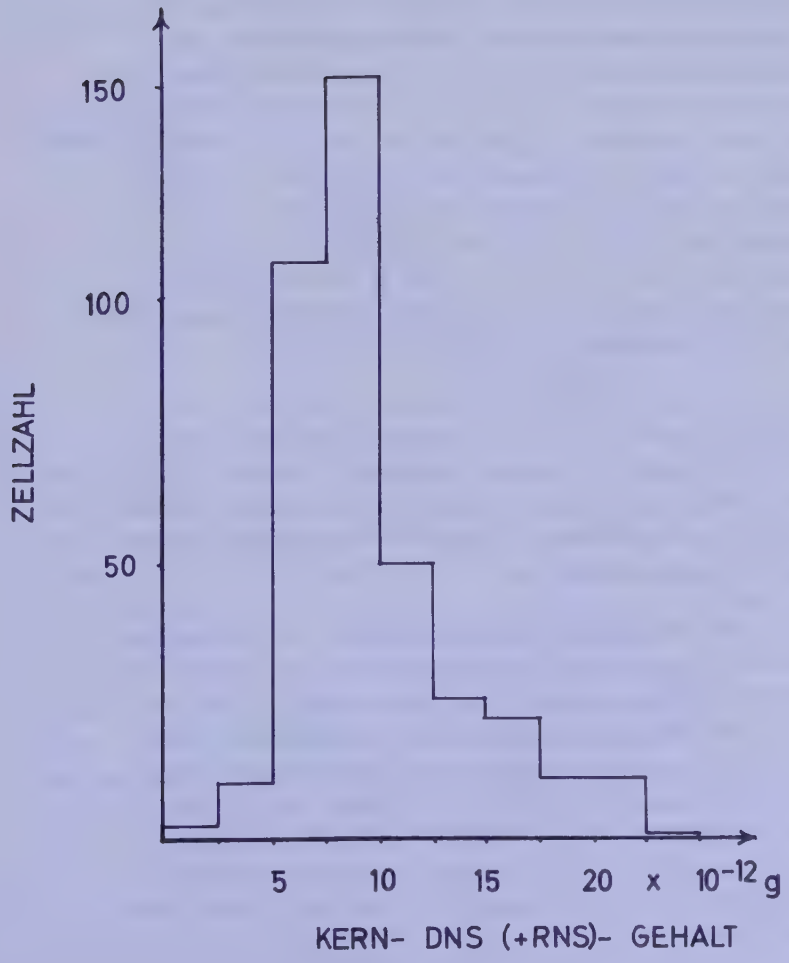
Fall 3 : Perniciöse Anämie, Patient Sti.
Anamnese: Klagen über Müdigkeit, Nachlassen des Leistungsvermögens. Geringe ziehende Schmerzen im Brustkorb links. Kribbeln in den Fingern beidseits.
Befunde: Auffällig blasse Haut und blasse Schleimhäute.
Labor: Aus dem Magensaft konnte auch nach Stimulierung mit Pentogastrin^{R} keine Säure gewonnen werden.
Schilling-Test: Die Menge des im 24 Stunden-Urin ausgeschiedenen Vitamin B 12 betrug 2,7 % (Normalwert 5 - 30 %) . Bei Wiederholung des Testes mit 1 Kapsel Intrinsic Factor normalisierte sich die radioaktive Vitamin B 12 Ausscheidung; sie war mit 6,5 % im unteren Normbereich. Retikulocytenkrise bereits nach der Testdosis Vitamin B 12.

Die klinisch wichtigsten hämatologischen Laborwerte der drei untersuchten Patienten sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Klinisch - hämatologische Befunde bei Patienten mit Eisenmangelanämie (Mü), sideroachrestischer Anämie (Bin) und perniciöser Anämie (Sti) .

	Mü Eisenm.	Bin Sid.	Sti p.A.
Alter, Jahre	70	63	48
Blut			
Erythrozyten, Mill./mm^3	3,7	2,8	1,8
Hämoglobin, g%	7,5	9,7	7,0
Hb_E, 10^{-12} g	20	33	35
Retikulozyten, ‰	28	9	7
Leukozyten / mm^3	7 100	3 400	5 200
Thrombozyten / mm^3	230 000	102 000	131 000
Knochenmark			
Anteil roter zu weißen Zellen, %	18	35	57
Sideroblasten, %	1	80	38
PAS in roten Vorstufen	1	0	5
Serumbefunde			
LDH, E	132	96	754
Eisenspiegel, µg%	20	199	127

Abb. 2: Kern- Nukleinsäurengehalt in Beziehung zur Erythroblastenzahl bei der Eisenmangelanämie, Patient Mü.
(Beschreibung S. 12)



D. B E F U N D E

1. Allgemeine Befunde

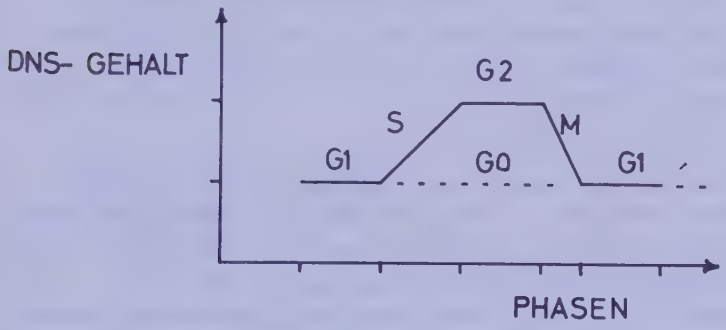
Die Messung der Zellbestandteile erfolgte in der vorliegenden Untersuchung im UV- Licht am ungefärbten Präparat. Eine morphologische Einteilung der Erythroblasten nach den Kriterien der PAPPENHEIM - Färbung war somit nicht möglich. Wir teilten die Erythroblasten deshalb in Kerngrößenklassen ein: in Erythroblasten über 60 μm^2 Kernfläche entsprechend den Proerythroblasten der normalen Erythropoese, in Erythroblasten von 32 bis 60 μm^2 und in Erythroblasten unter 32 μm^2 Kernfläche entsprechend den oxyphilen Erythroblasten der normalen Erythropoese. Diese Einteilung nach MÜLLER und Mitarbeitern(1973) wurde auch für die pathologische Erythropoese beibehalten. Dadurch sind Vergleiche zwischen normaler und pathologischer Erythropoese möglich.

Der Nukleinsäurengehalt des Zellkerns liegt bei unseren Messungen in der Mehrzahl der untersuchten Erythroblasten bei Werten um $8x10^{-12}$ g. Die Abbildung 2 zeigt als Beispiel den Kern-DNS (+RNS)-Gehalt in Beziehung zur Zellzahl beim Patienten Mü mit Eisenmangelanämie.

Jede teilungsfähige Zelle verdoppelt im Laufe einer Generation ihren Kern-DNS-Gehalt. Dieser stellt die genetische Information dar, die durch Teilung an eine Tochterzelle weitergegeben werden kann. Der einfache Kern-DNS-Gehalt liegt in der G 1- Phase vor, der doppelte in der G 2- Phase. Die Phase, in der Zellbestandteile synthetisiert und die DNS identisch redupliziert wird, bezeichnet man als S- Phase oder auch Interphase. Die Zelle kann aber auch ohne

DNS - Produktion in eine Ruhephase übergehen, die G 0 - Phase genannt wird. In der M (Mitose)-Phase wird das Erbmaterial gleichmäßig auf die beiden Tochterzellen aufgeteilt. Die Tochterzelle befindet sich also wieder in der G 1 - Phase, und der Zellzyklus kann von neuem beginnen. Die Einteilung der verschiedenen Zyklusphasen zeigt die Abbildung 3.

Abb. 3 : Zyklusphasen einer proliferierenden Zelle in Beziehung zum DNS - Gehalt.



Nach SANDRITTER und Mitarbeitern (1960) liegt der DNS - Gehalt menschlicher Zellen in der G 1 - Phase bei $6{,}8 \times 10^{-12}$ g. In der vorliegenden Untersuchung entsteht durch die Messung des Kern- DNS (+ RNS) - Gehalts eine gewisse Streubreite. Alle Erythroblasten mit einem Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt unter 11×10^{-12} g wurden der G 0 - G 1 - Phase zugeordnet, Zellen mit einem Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt zwischen 11 und 16×10^{-12} g der S- Phase, alle Zellen mit einem höheren Kern- Nukleinsäurengehalt der G 2 - Phase.

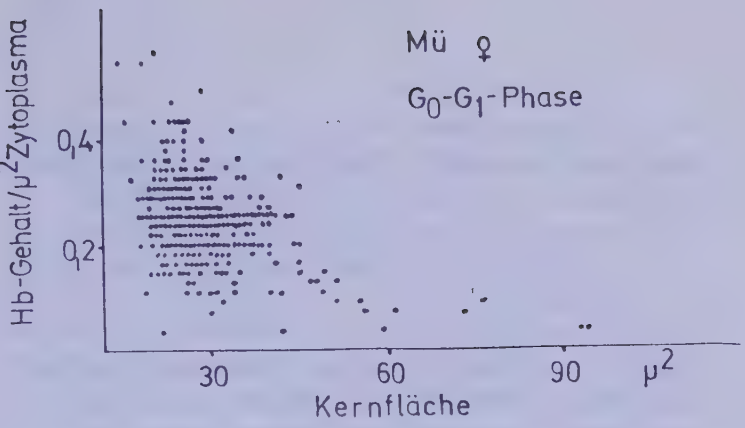
2. Patient Mü mit Eisenmangelanämie

Die Abbildung 4 zeigt die Kernfläche in Beziehung zum Hämoglobingehalt / μm^2 Zytoplasma. Die Erythroblasten sind unterteilt in G O- G 1- , S- und G 2- Phase.

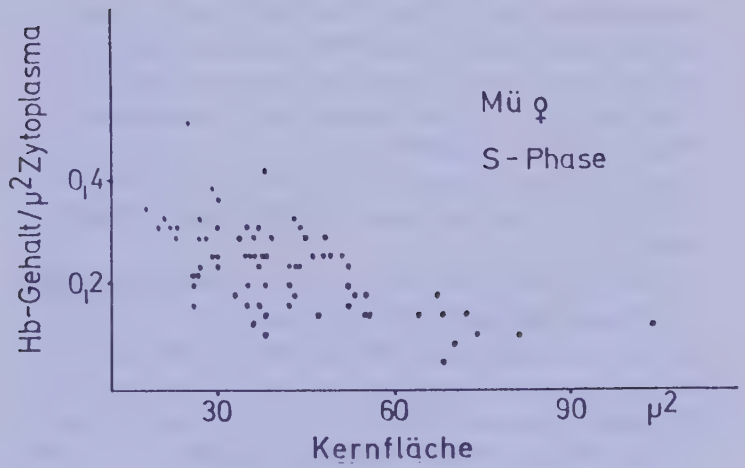
Erythroblasten ohne Hämoglobingehalt sind nicht nachzuweisen. In der G O- G 1- Phase (Abb. 4a) gibt es einzelne größere und kleinere Erythroblasten mit geringem Hb- Gehalt (unter $0,1 \times 10^{-12}$ g / μm^2). In den Erythroblasten um 30 um^2 Kernfläche findet man in der G O- G 1- Phase einen Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma auch über $0,4 \times 10^{-12}$ g / μm^2 .

In den Erythroblasten mit einem Kern- Nukleinsäuren-Gehalt, der der S- Phase und der G 2- Phase entspricht (Abb. 4b und c), liegt der maximale Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma bei etwa 0,3 , ganz selten bei $0,4 \times 10^{-12}$ g / μm^2. Diese hohe Hämoglobinkonzentration weisen insbesondere kleine, teilweise aber auch größere Erythroblasten auf. Die obere Grenze des Hb- Gehalts / μm^2 Zytoplasma ist etwas niedriger als in der normalen Erythropoese, höher als bei hämolytischer Anämie und höher als bei der Thalassämie (MÜLLER et al. 1974).

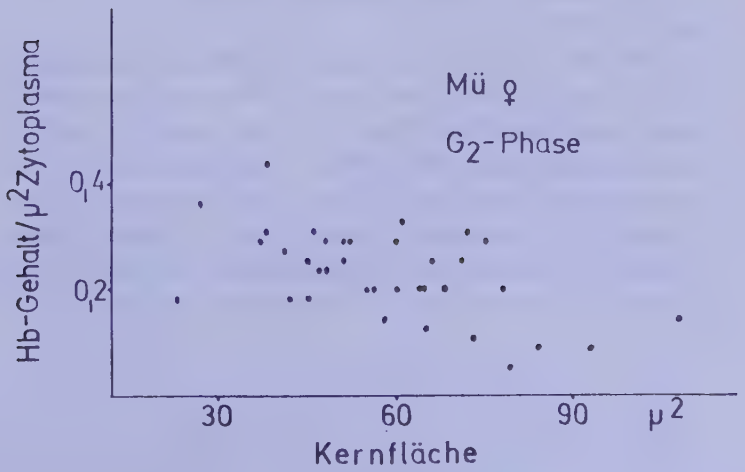
Abb. 4 a.


Mü ♀
G_0-G_1-Phase
Hb-Gehalt/μ^2Zytoplasma
0,4
0,2
30
60
90
μ^2
Kernfläche

b.


Mü ♀
S-Phase
Hb-Gehalt/μ^2Zytoplasma
0,4
0,2
30
60
90
μ^2
Kernfläche

c.


Mü ♀
G_2-Phase
Hb-Gehalt/μ^2Zytoplasma
0,4
0,2
30
60
90
μ^2
Kernfläche

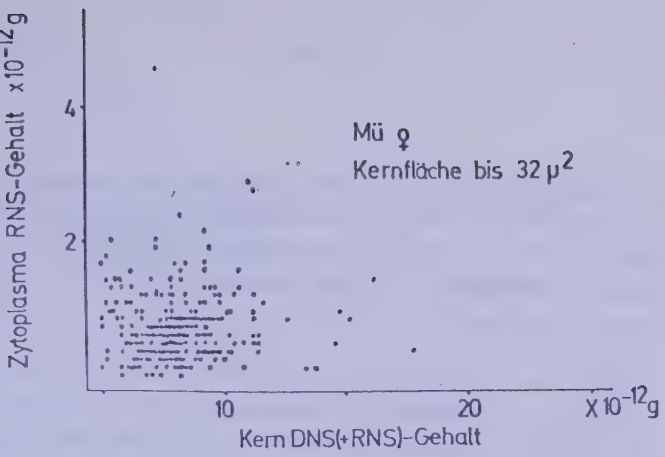
Die Abbildung 5 zeigt den über dem Kern gemessenen Nukleinsäurengehalt in Beziehung zum zytoplasmatischen RNS- Gehalt, beide in 10^{-12} g. Dabei sind die Erythroblasten in drei Kerngrößenklassen eingeteilt: in Zellen bis 32 μm^2, bis 60 μm^2 und über 60 μm^2 Kernfläche.

Die Erythroblasten mit einer Kernfläche über 60 μm^2 (Abb. 5 c) haben einen Kern- Nukleinsäurengehalt zwischen 8 und $23x10^{-12}$ g. Ihr zytoplasmatischer RNS- Gehalt steigt mit zunehmendem Kern- Nukleinsäurengehalt von 0,3 auf 0,5 bis $1,5x10^{-12}$ g. Ganz vereinzelt zeigen Erythroblasten dieser Größenklasse einen wesentlich höheren RNS- Gehalt (bis $6x10^{-12}$ g). Der Anstieg des Zytoplasma RNS- Gehalts mit dem Zellzyklus ist in der Zellgruppe mit einer Kernfläche über 60 μm^2 ähnlich stark wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973).

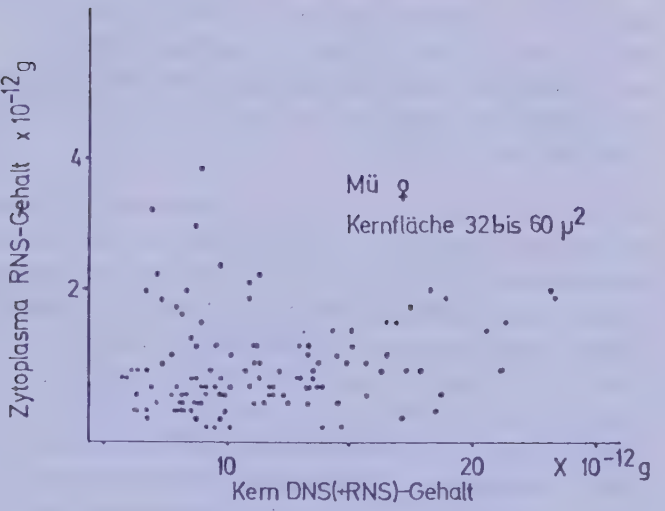
Der RNS- Anstieg bei den Erythroblasten mit einer Kernfläche zwischen 32 und 60 μm^2 (Abb. 5 b) mit zunehmendem Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt im Zellzyklus ist etwas stärker als in den größeren Erythroblasten mit einer Kernfläche über 60 μm^2. In der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) bilden dagegen die größten Erythroblasten am meisten RNS.

Die Erythroblasten mit einer Kernfläche bis 32 μm^2 (Abb. 5a) haben einen Kern- Nukleinsäurengehalt meist zwischen 5 und $11x10^{-12}$g DNS (+RNS). Ihr zytoplasmatischer RNS- Gehalt liegt hauptsächlich zwischen 0,5 und $1x10^{-12}$g RNS. Die wenigen Erythroblasten mit einem Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt über $11x10^{-12}$g zeigen einen deutlich höheren RNS- Anstieg mit dem Zellzyklus wie die größeren Zellen.

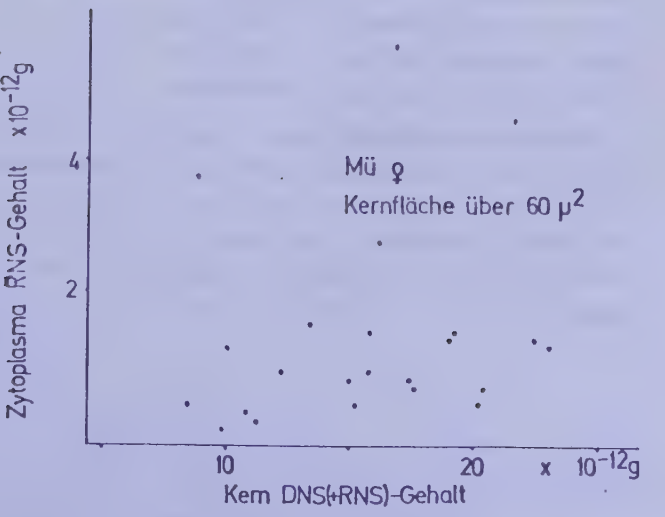
Abb. 5 a.


Zytoplasma RNS-Gehalt x10⁻¹²g
4
2
Mü ♀
Kernfläche bis 32 μ²
10
20
X10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

b.


Zytoplasma RNS-Gehalt x10⁻¹²g
4
2
Mü ♀
Kernfläche 32bis 60 μ²
10
20
X 10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

c.


Zytoplasma RNS-Gehalt x10⁻¹²g
4
2
Mü ♀
Kernfläche über 60 μ²
10
20
x 10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

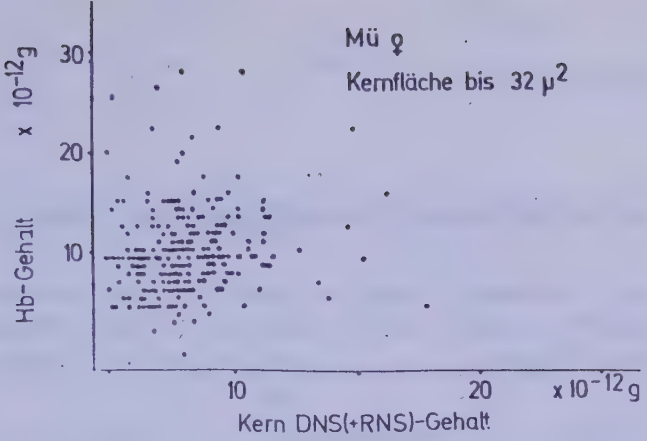
Die Abbildung 6 zeigt den über dem Kern gemessenen Nukleinsäurengehalt in Beziehung zum Hämoglobingehalt in 10^{-12}g. Wieder wurden dieselben drei Kerngrößenklassen mit den Grenzen bei 32 und 60 μm^2 Kernfläche gebildet.

Die Erythroblasten mit einer Kernfläche über 60 μm^2 (Abb. 6 c) zeigen mit zunehmendem Kern- Nukleinsäurengehalt einen von 1 bis 8 auf 6 bis 20x10^{-12}g ansteigenden Hämoglobingehalt. Der Anstieg des Hämoglobingehalts mit dem Zellzyklus erfolgt in den Zellen mit einer Kernfläche über 60 μm^2 etwas vermindert im Vergleich zur normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973).

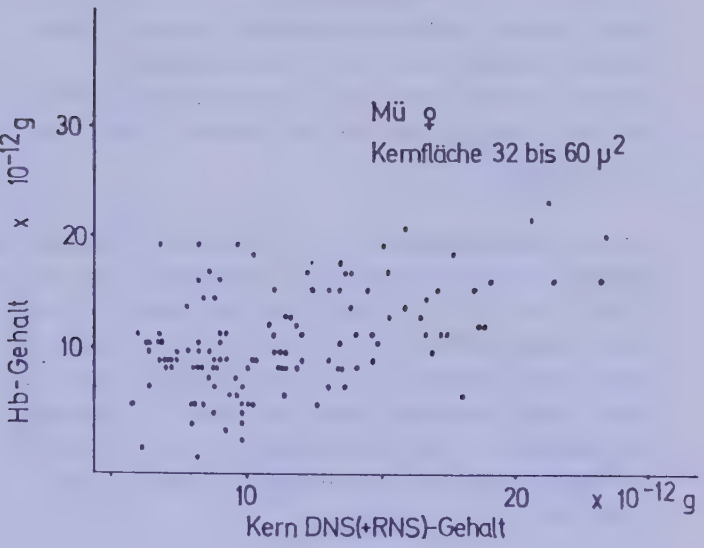
Die Erythroblasten mit einer Kernfläche zwischen 32 und 60 μm^2 (Abb. 6 b) haben einen Kern- Nukleinsäurengehalt von 6 bis 23x10^{-12}g. Der Hämoglobingehalt steigt bei den Erythroblasten mit einem Kern- Nukleinsäurengehalt zwischen 11 und 16x10^{-12} g, also im Bereich der S- Phase, von 5 bis 15 auf Werte von 12 bis 21x10^{-12} g Hämoglobin. Die Hämoglobinsynthese mit dem Zellzyklus scheint wie bei den Erythroblasten mit einer Kernfläche über 60 μm^2 anzusteigen. In der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) steigt dagegen der Hämoglobingehalt in den mittelgroßen Erythroblasten am stärksten.

Die Erythroblasten mit einer Kernfläche bis 32 μm^2 (Abb. 6 a) haben einen Kern- Nukleinsäurengehalt hauptsächlich zwischen 5 und 11x10^{-12} g DNS (+RNS). Ihr Hämoglobingehalt liegt meist zwischen 5 und 15x10^{-12}g, die Maximalwerte liegen bei 28x10^{-12}g Hämoglobin.

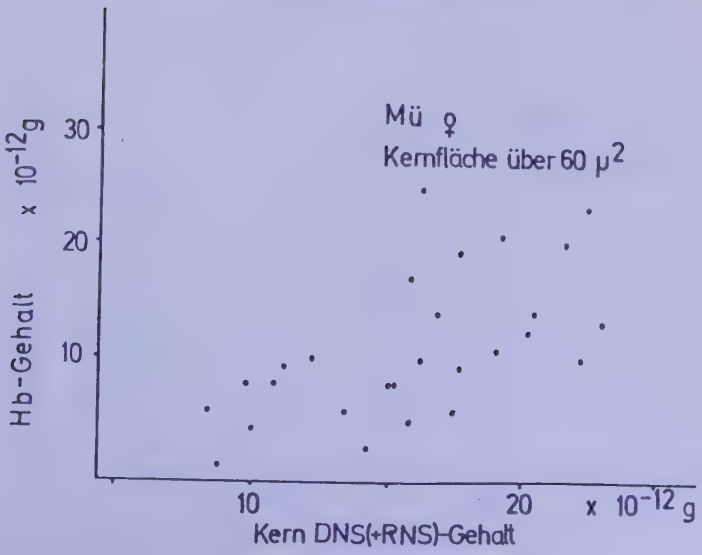
Abb. 6 a.


Mü ♀
Kernfläche bis 32 μ²
Hb-Gehalt x 10⁻¹²g
30
20
10
10
20
x 10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

b.


Mü ♀
Kernfläche 32 bis 60 μ²
Hb-Gehalt x 10⁻¹²g
30
20
10
10
20
x 10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

c.


Mü ♀
Kernfläche über 60 μ²
Hb-Gehalt x 10⁻¹²g
30
20
10
10
20
x 10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

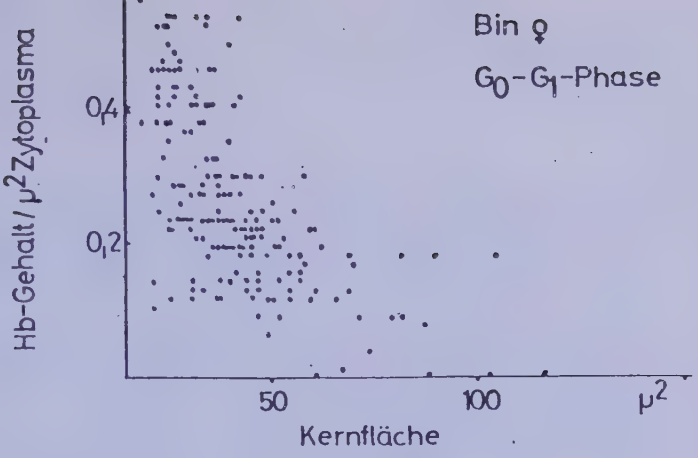
3. Patient Bin mit sideroachrestischer Anämie

Die Abbildung 7 zeigt die Kernfläche in Beziehung zum Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma. Die Erythroblasten sind eingeteilt in G 0- G 1-, S- und G 2- Phase.

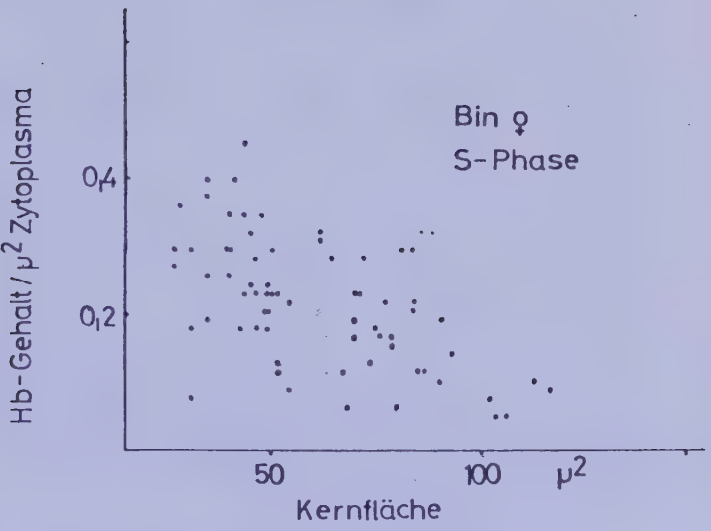
In der G 0- G 1- Phase (Abb. 7 a) gibt es ein paar wenige Erythroblasten ohne nachweisbaren Hämoglobingehalt in der Größe zwischen 60 und 120 μm^2 Kernfläche. In den kleineren Erythroblasten geht der Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma bis $0{,}6 \times 10^{-12}$ g / μm^2 .

In den Erythroblasten mit einem Kern- Nukleinsäuren-Gehalt, der der S- und der G 2- Phase entspricht (Abb. 7 b und c), wird ein Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma von 0,4 bis $0{,}5 \times 10^{-12}$ g / μm^2 zum Teil auch von größeren Erythroblasten erreicht, aber nicht überschritten. Die obere Grenze des Hb- Gehalts / μm^2 Zytoplasma in der G 2- Phase ist gleich wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973).

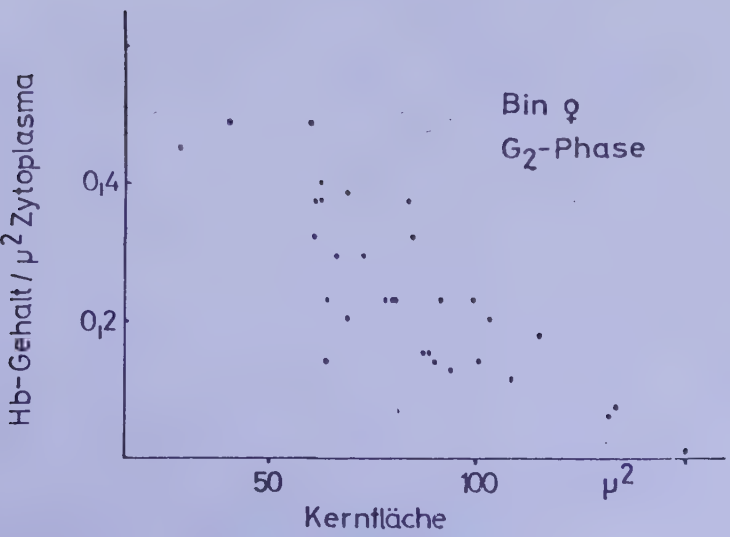
Abb. 7a.


Hb-Gehalt / μ^2 Zytoplasma
0,4
0,2
Bin ♀
G_0-G_1-Phase
50
100
μ^2
Kernfläche

b.


Hb-Gehalt / μ^2 Zytoplasma
0,4
0,2
Bin ♀
S-Phase
50
100
μ^2
Kernfläche

c.


Hb-Gehalt / μ^2 Zytoplasma
0,4
0,2
Bin ♀
G_2-Phase
50
100
μ^2
Kernfläche

Die Abbildung 8 zeigt den Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt in Beziehung zum Zytoplasma- RNS- Gehalt in 10^{-12}g bei einem Kranken mit sideroachrestischer Anämie.

Die Erythroblasten mit einer Kernfläche über 60 μm^2 (Abb. 8 c) haben einen Kern- Nukleinsäuren- Gehalt von 8 bis $25x10^{-12}$g. Dabei werden auch hohe zytoplasmatische RNS- Werte bis $6x10^{-12}$g in allen Kern- DNS (+ RNS)- Bereichen erreicht. Der RNS- Anstieg mit dem Zellzyklus läßt sich nicht beurteilen. Durchschnittlich liegt aber der Zytoplasma- RNS- Gehalt doppelt so hoch wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973).

Die meisten Erythroblasten mit einer Kernfläche von 32 bis 60 μm^2 (Abb. 8 b) liegen im Bereich von 7 bis $12x10^{-12}$g Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt mit einem Zytoplasma- RNS- Gehalt von 0 bis 4 (bis 6) x 10^{-12} g. Über einen Kern- Nukleinsäuren- Gehalt von $12x10^{-12}$ g hinaus gibt es nur wenige Erythroblasten. Ihr RNS- Anstieg im Zellzyklus scheint ähnlich stark wie bei der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973).

Die Erythroblasten mit einer Kernfläche bis 32 μm^2 (Abb. 8 a) haben einen Kern- Nukleinsäuren- Gehalt meistens zwischen 5 und $12x10^{-12}$ g. Ihr RNS- Gehalt liegt zwischen 0 und $4x10^{-12}$ g.

Abb. 8a.

Bin ♀
Kernfläche bis 32 μ²
Zytoplasma RNS-Gehalt x10⁻¹²g
5
1
10
20
x 10⁻¹² g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

b.

Bin ♀
Kernfläche 32 bis 60 μ²
Zytoplasma RNS-Gehalt x10⁻¹²g
5
1
10
20
x10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

c.

Bin ♀
Kernfläche über 60 μ²
Zytoplasma RNS-Gehalt x 10⁻¹²g
5
1
10
20
x 10⁻¹² g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

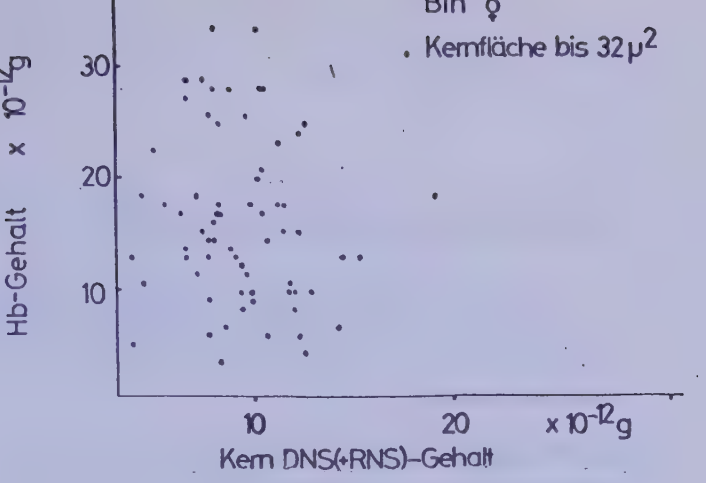
Die Abbildung 9 zeigt den über dem Kern gemessenen Nukleinsäurengehalt in Beziehung zum Hämoglobingehalt in 10^{-12} g.

Die Erythroblasten mit einer Kernfläche über 60 μm^2 (Abb. 9 c) steigen mit zunehmendem Kern- Nukleinsäuren- Gehalt mit ihrem Hämoglobingehalt von 0 bis 20 auf Werte von 10 bis 20 (bis 30)x10^{-12} g. Einige wenige Erythroblasten mit einem Kern- Nukleinsäuren- Gehalt zwischen 7 und 11x10^{-12} g haben keinen Hämoglobingehalt. Der Hämoglobinanstieg in der S- Phase verläuft etwa gleich wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973).

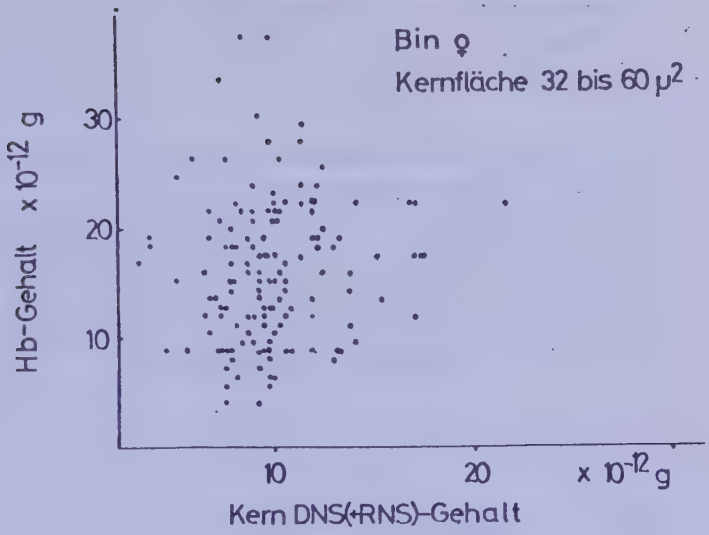
Der Hämoglobingehalt der Erythroblasten mit einer Kernfläche von 32 bis 60 μm^2 (Abb. 9 b) liegt zwischen 4 und 30x10^{-12} g, meist zwischen 10 und 20x10^{-12} g. Der Anstieg des Hb- Gehalts in den Erythroblasten, deren Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt der Interphase entspricht, scheint steiler als in den Zellen mit einer Kernfläche über 60 μm^2. Auch in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) erfolgt die stärkste interphasische Hämoglobinzunahme in den mittelgroßen Erythroblasten.

Der Hb- Gehalt zeigt bei den Erythroblasten mit einer Kernfläche bis 32 μm^2 (Abb. 9 a) größenmäßig eine ähnliche Verteilung wie bei den Erythroblasten mit einer Kernfläche von 32 bis 60 μm^2.

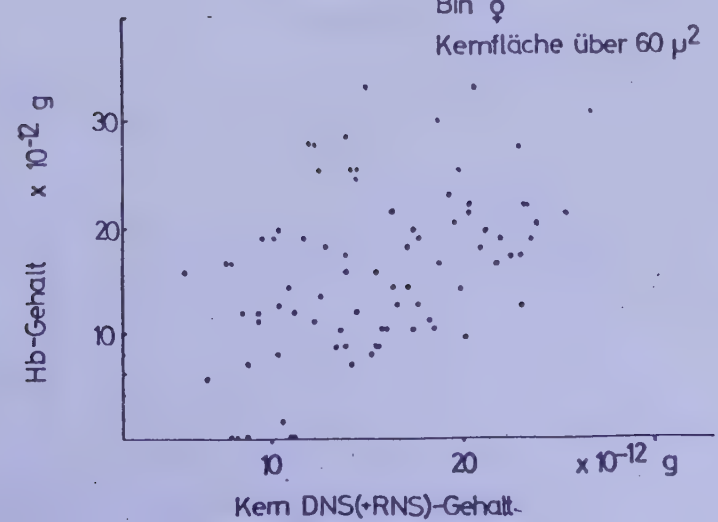
Abb. 9 a.


Bin ♀
Kernfläche bis 32 μ²
Hb-Gehalt x 10⁻¹²g
30
20
10
10
20
x 10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

b.


Bin ♀
Kernfläche 32 bis 60 μ²
Hb-Gehalt x 10⁻¹² g
30
20
10
10
20
x 10⁻¹² g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

c.


Bin ♀
Kernfläche über 60 μ²
Hb-Gehalt x 10⁻¹² g
30
20
10
10
20
x 10⁻¹² g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

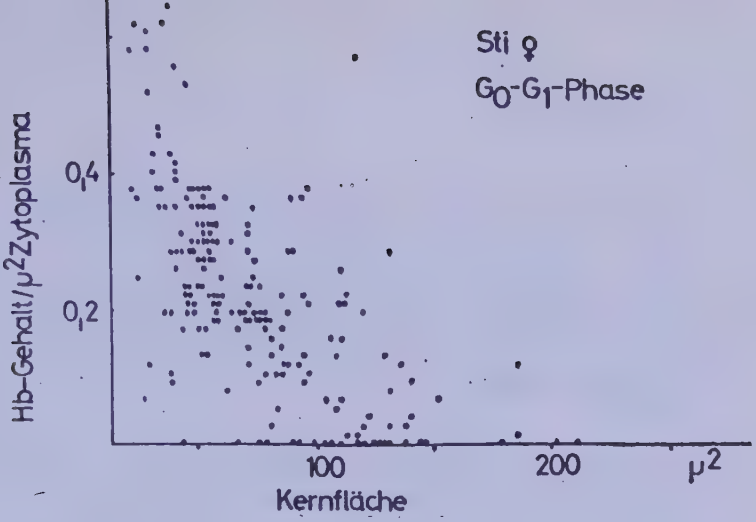
4. Patient Sti mit perniciöser Anämie

Die Abbildung 10 zeigt die Kernfläche in Beziehung zum Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma. Die Megaloblasten sind in der G 0- G 1- Phase, in der S- und G 2- Phase dargestellt.

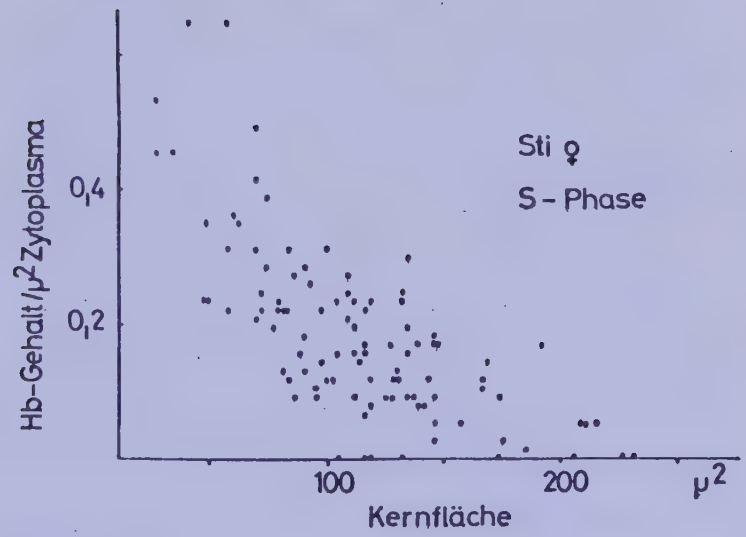
Bei den Megaloblasten, deren Kern- DNS (+ RNS) - Gehalt der G 0- G 1- Phase (Abb. 10a) und der S- Phase (Abb. 10 b) entspricht, reicht der Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma von 0 bis $0,6 \times 10^{-12}$ g / μm^2.

Nur wenige Erythroblasten, deren Kern- DNS (+ RNS) - Gehalt der G 2- Phase entspricht (Abb. 10 c), erreichen einen Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma von 0,4 bis 0,5 x 10^{-12} g / μm^2 . Wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) wird diese obere Grenze des Hb- Gehalts / μm^2 Zytoplasma in der G 2- Phase nicht überschritten.

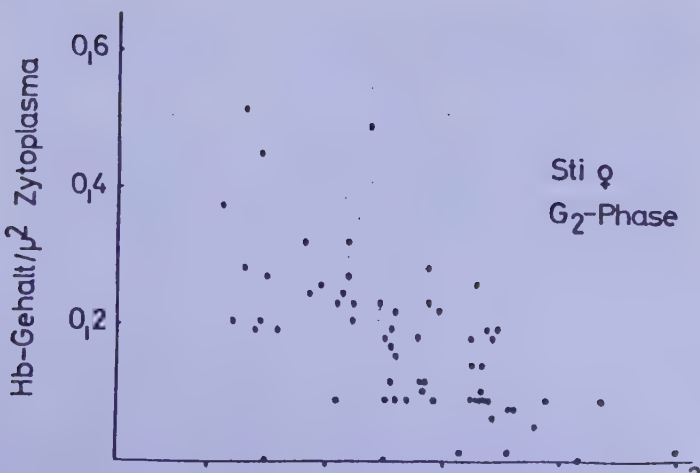
Abb. 10 a.


Sti ♀
G_0-G_1-Phase
Hb-Gehalt/μ^2Zytoplasma
0,4
0,2
100
200
μ^2
Kernfläche

b.


Sti ♀
S - Phase
Hb-Gehalt/μ^2Zytoplasma
0,4
0,2
100
200
μ^2
Kernfläche

c.


Sti ♀
G_2-Phase
Hb-Gehalt/μ^2 Zytoplasma
0,6
0,4
0,2

In Abbildung 11 ist der Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt gegen den Zytoplasma- RNS- Gehalt aufgetragen. Da die perniciöse Anämie durch das Auftreten großer Zellformen (Megaloblasten im Knochenmark) gekennzeichnet ist, wurde eine zusätzliche Kerngrößenklasse mit einer Kernfläche über 110 μm^2 gebildet.

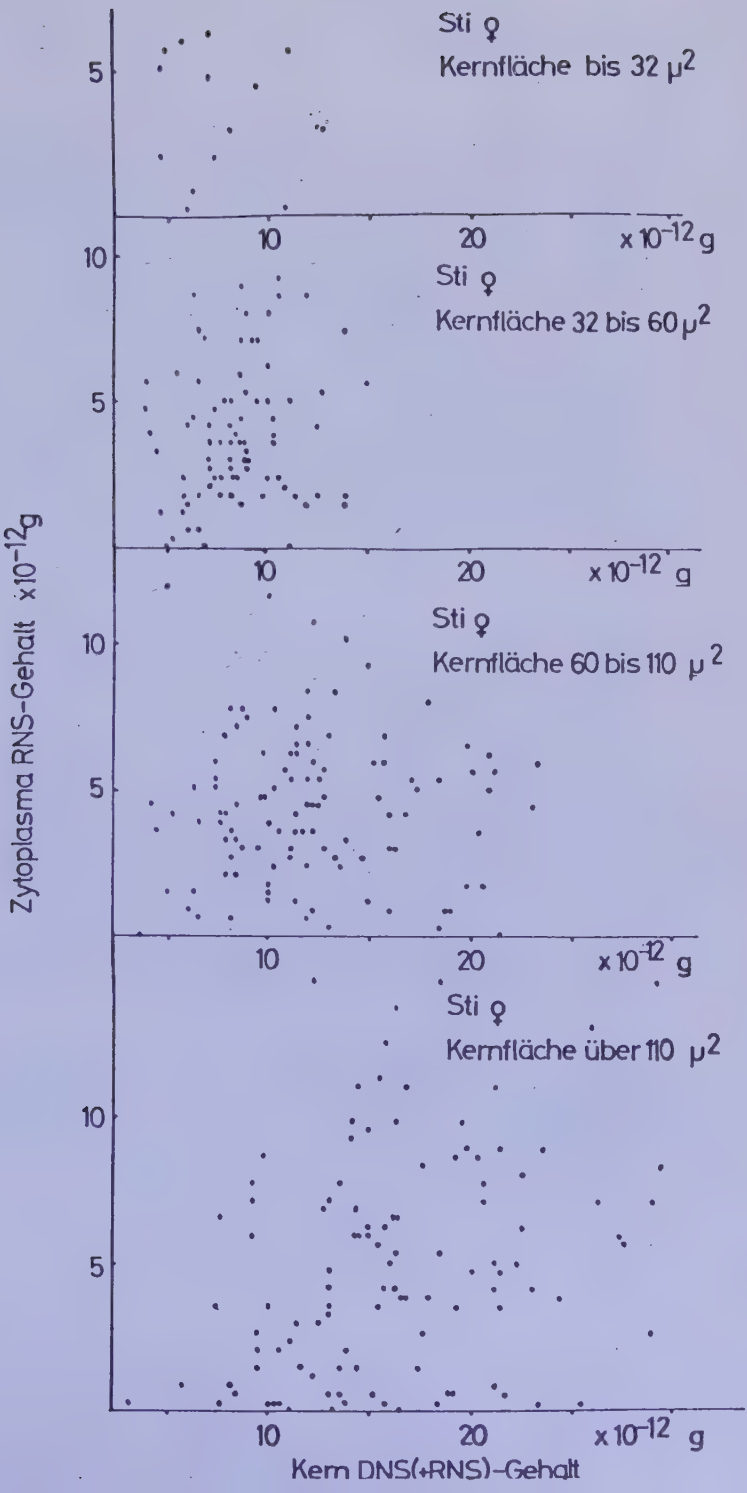
Die Megaloblasten mit einer Kernfläche über 110 μm^2 (Abb. 11 d) haben einen Kern- Nukleinsäuren- Gehalt von 4 bis $30x10^{-12}$ g. Der zytoplasmatische RNS- Anstieg im Zellzyklus (von 11 bis $16x10^{-12}$g Kern- DNS (+ RNS)) geht von 0 bis 3 auf 0 bis $15x10^{-12}$ g RNS. Möglicherweise ist durch den hohen RNS- Gehalt der Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt falsch berechnet. Auf jeden Fall ist der RNS- Anstieg im Zellzyklus gegenüber der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) bis um das Fünffache verstärkt.

Die Megaloblasten mit einer Kernfläche von 60 bis 110 μm^2 (Abb. 11 c) haben einen Kern- Nukleinsäuren- Gehalt von 4 bis $23x10^{-12}$ g. Der Zytoplasma- RNS- Gehalt reicht von 0 bis 7 (bis maximal 12) x 10^{-12} g. Der RNS- Anstieg im Zellzyklus läßt sich nicht sicher beurteilen.

Die Megaloblasten mit einer Kernfläche von 32 bis 60 μm^2 (Abb. 11 b) haben einen Kern- DNS (+RNS)- Gehalt zwischen 4 und $14x10^{-12}$g. Der RNS- Gehalt des Zytoplasmas liegt zwischen 0 und $9x10^{-12}$ g.

Es gibt nur wenige Megaloblasten mit einer Kernfläche unter 32 μm^2 (Abb. 11 a). Sie liegen in einem Bereich unter $13x10^{-12}$g Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt und haben einen Zytoplasma- RNS- Gehalt zwischen 0 und $6x10^{-12}$g.

Abb. 11 a.


Sti ♀
Kernfläche bis 32 μ²
5
10
20
x 10⁻¹² g
b.
Sti ♀
Kernfläche 32 bis 60 μ²
5
10
20
x 10⁻¹² g
c.
Sti ♀
Kernfläche 60 bis 110 μ²
5
10
20
x 10⁻¹² g
d.
Sti ♀
Kernfläche über 110 μ²
5
10
20
x 10⁻¹² g
Zytoplasma RNS-Gehalt x10⁻¹²g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

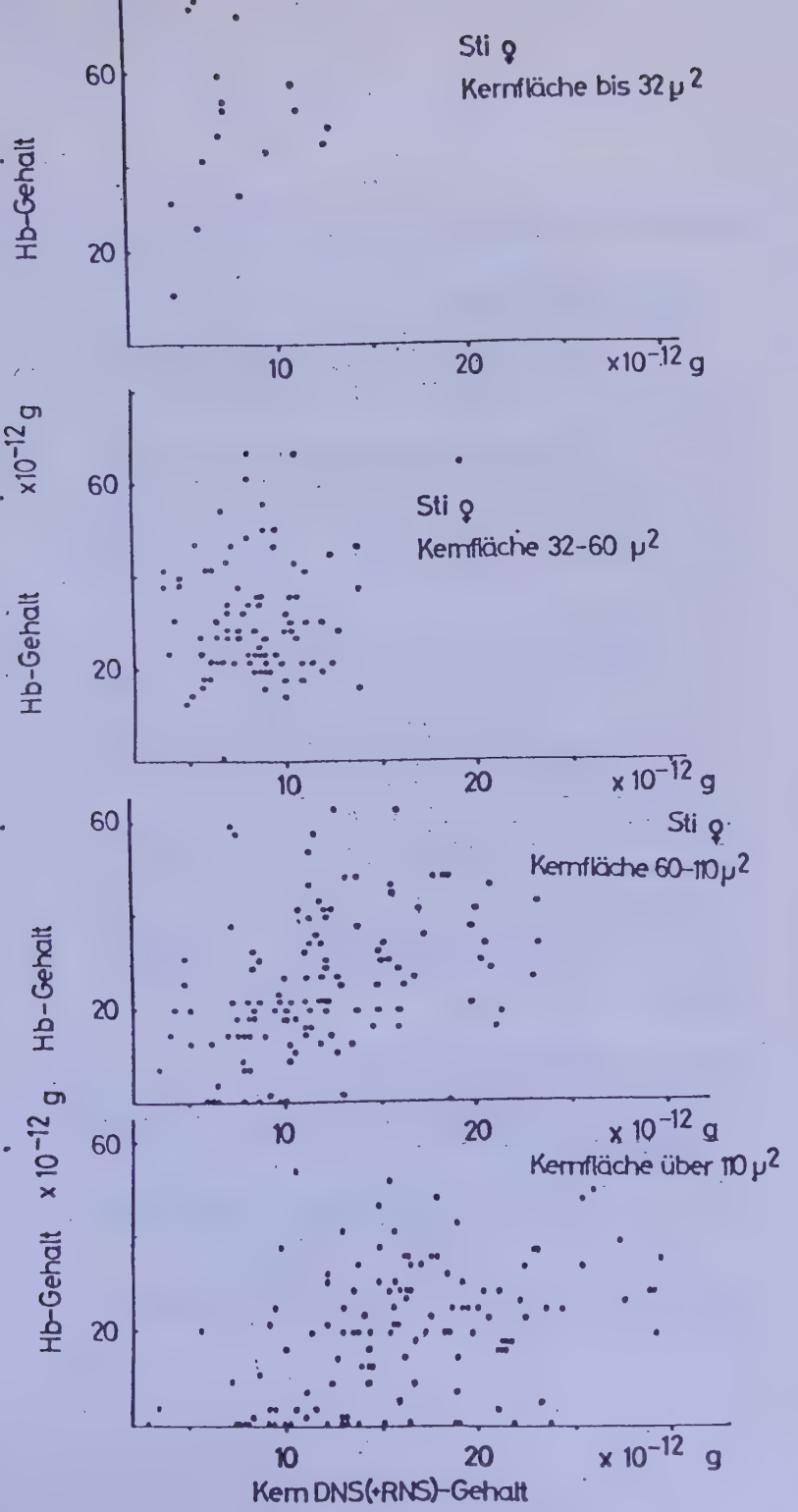
Die Abbildung 12 zeigt den Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt gegen den Hb- Gehalt aufgetragen, beide in 10^{-12} g. Wieder sind die Megaloblasten in vier Kerngrößengruppen eingeteilt: bis 32 μm^2, von 32 bis 60 μm^2, von 60 bis 110 μm^2 und über 110 μm^2 Kernfläche.

Die Megaloblasten mit einer Kernfläche über 110 μm^2 (Abb. 12 d) steigen bei einem von 3 auf $30x10^{-12}$ g zunehmenden Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt mit ihrem Hämoglobingehalt von 0 auf maximal $50x10^{-12}$ g an. Der Hämoglobinanstieg im Zellzyklus ist stärker als in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973). Megaloblasten ohne nachweisbares Hämoglobin gibt es zwischen 7 und $24x10^{-12}$ g Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt.

Megaloblasten mit einer Kernfläche von 60 bis 110 μm^2 (Abb. 12 c) lassen bei einem Kern- Nukleinsäuren-Gehalt von 6 bis $10x10^{-12}$ g vereinzelt keinen Hämoglobingehalt erkennen. Im Zellzyklus von 11 bis $16x10^{-12}$ g Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt steigt der Hämoglobingehalt von 9 bis 24 auf 16 bis 45 (bis 60) x 10^{-12} g an. Der Anstieg mit dem Zellzyklus erscheint steiler als bei den Megaloblasten mit einer Kernfläche über 110 μm^2. In der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) zeigen die mittelgroßen Erythroblasten ebenfalls den stärksten Hämoglobinanstieg in der Interphase.

In den Megaloblasten mit einer Kernfläche unter 60 μm^2 Kernfläche (Abb. 12 a und b) liegt der Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt zwischen 5 und $14x10^{-12}$g und der Hämoglobingehalt zwischen 10 und $70x10^{-12}$ g.

Abb. 12 a.


Hb-Gehalt
60
20
Sti ♀
Kernfläche bis 32 μ²
10
20
x10⁻¹² g
b.
x10⁻¹² g
Hb-Gehalt
60
20
Sti ♀
Kernfläche 32-60 μ²
10
20
x 10⁻¹² g
c.
60
20
Hb-Gehalt
Sti ♀
Kernfläche 60-110 μ²
10
20
x 10⁻¹² g
d.
Hb-Gehalt x 10⁻¹² g
60
20
Kernfläche über 110 μ²
10
20
x 10⁻¹² g
Kern DNS(+RNS)-Gehalt

E. D I S K U S S I O N

1. Normale Erythropoese

Die Erythropoese läuft nach den vorangegangenen Untersuchungen von MÜLLER und Mitarbeitern (1973) wie folgt ab:
In der G 1 - Phase wandeln sich Stammzellen in überwiegend große Erythroblasten um. Die größten Erythroblasten bilden in der S- Phase am meisten RNS. Die stärkste interphasische Hämoglobinzunahme erfolgt in den mittelgroßen Erythroblasten. Eine kritische Hämoglobinkonzentration wird in der G 2 - Phase überwiegend von kleineren, aber auch größeren Erythroblasten erreicht und nicht überschritten. Die Generationenfolge der Erythropoese ist damit beendet, und die Zellen reifen noch aus. Da die Erythroblastengröße von Generation zu Generation abnimmt, lassen die Befunde vermuten, daß eine unterschiedliche Zahl von Generationsfolgen möglich ist, daß aber die Mehrzahl der Erythroblasten eine gleiche Zahl von Generationen bis zu ihrer Reifung und Kernausstoßung durchläuft.

2. Pathologische Erythropoese

a. Stammzellumwandlung in morphologisch erkennbare rote Vorstufen

Wie in der normalen Erythropoese (Müller et al. 1973) erfolgt die Stammzellumwandlung in morphologisch erkennbare rote Vorstufen in überwiegend große, aber auch kleinere Erythroblasten.

Bei der Eisenmangelanämie sieht man in der G O- G 1 - Phase einige wenige Erythroblasten mit niedrigem Hämoglobingehalt (unter $0,1 \times 10^{-12}$ g / μm^2) ganz unterschiedlicher Größe. Bei der sideroachrestischen Anämie weisen einige wenige Erythroblasten mit einer Kernfläche über 60 μm^2, deren Kern-DNS (+ RNS)- Gehalt der G O- G 1- Phase entspricht, keinen nachweisbaren Hämoglobingehalt auf. Man muß daher annehmen, daß die Stammzellumwandlung in morphologisch erkennbare rote Vorstufen i n d e r G 1 - P h a s e ü b e r w i e g e n d i n g r o ß e E r y t h r o b l a s t e n erfolgt.

Dann erfolgt schnell die Hämoglobinbildung bei der Eisenmangelanämie und der sideroachrestischen Anämie, weshalb nur wenige Erythroblasten mit niedrigem Hämoglobingehalt zu finden sind. Bei der perniciösen Anämie befinden sich mehr Zellen ohne nachweisbaren Hämoglobingehalt in allen Zyklusphasen, überwiegend aber in der G O- G 1- Phase. Auch hier fällt auf, daß in der G O- G 1- Phase Megaloblasten verschiedener Kerngrößen ohne Hämoglobingehalt sind. Die Stammzellumwandlung erfolgt wohl auch in diesem Fall in größere und kleinere Zellen in der G 1- Phase. Die nachfolgende Hämoglobinbildung scheint aber langsam zu erfolgen, weil relativ mehr Zellen als in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) keinen Hämaglobingehalt aufweisen. So gibt es auch noch in der S- und G 2- Phase Megaloblasten ohne nachweisbaren Hämoglobingehalt.

b. Generationen der roten Knochenmarkszellen

Die Generationen der roten Knochenmarkszellen haben STOHLMAN et al. (1968) in einem Regulationsmodell dargestellt:
Nach diesem wird am Ende der Generationenfolge die maximale Hämoglobinkonzentration erreicht. Ein negativer Rückkoppelungsmechanismus sorgt dafür, daß eine weitere DNS- Synthese und eine weitere Zellteilung ausbleiben, sobald eine kritische Hämoglobinkonzentration erreicht ist.

In Übereinstimmung mit STOHLMAN et al. (1968) ergeben die eigenen Untersuchungen:
In der G 2 - Phase der Erythroblasten der sideroachrestischen und der perniciösen Anämie wird wie bei der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) ein Hämoglobingehalt / μm^2 Zytoplasma von 0,4 bis $0,5 \times 10^{-12}$ g / μm^2 erreicht und nicht überschritten. Abweichend von der normalen Erythropoese liegt bei der Eisenmangelanämie der maximale Hämoglobingehalt / μm^2 Zytoplasma etwas niedriger, bei 0,3 bis $0,4 \times 10^{-12}$ g / μm^2, aber höher als bei der hämolytischen Anämie und der Thalassämie (MÜLLER et al. 1974).

Bei der Eisenmangelanämie, sideroachrestischen und perniciösen Anämie fällt auf, daß die maximale Hämoglobinkonzentration in der G 2 - Phase von Erythroblasten recht unterschiedlicher Größe erreicht wird. Diese Zellen gehören wohl verschiedenen Generationen an, denn mit fortschreitender Generationenfolge nimmt die Zellgröße ab.

Die Zahl der Reifeteilungen ist somit nicht konstant, vielmehr laufen in allen Fällen v e r e i n z e l t a u c h v e r m i n d e r t R e i f e t e i l u n g e n ab. Dies ist auch schon bei der normalen Erythropoese (DÖRMER 1974, MÜLLER et al. 1973) der Fall. Bei der Eisenmangelanämie liegt der maximale Hämoglobingehalt / μm^2 Zytoplasma in der G 2 - Phase niedriger als in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) und wird ebenfalls auch schon von relativ großen Erythroblasten erreicht. Da nach dem Regulationsmodell von STOHLMAN et al. (1968) die maximale Hämoglobinkonzentration einen Repressormechanismus auf die weitere DNS- Synthese auslöst und damit weitere Reifeteilungen verhindert, laufen i n s b e s o n d e r s b e i d e r E i s e n m a n g e l a n ä m i e weniger Reifeteilungen als normal ab. Dies widerspricht der Vorstellung von STOHLMAN et al. (1968), die bei der Eisenmangelanämie eine vermehrte Zahl von Reifeteilungen annehmen.

In der Literatur findet man zur Frage der Reifeteilungen bei den verschiedenen Anämien folgendes:

1. Bei der Eisenmangelanämie findet DÖRMER (1974) in einer autoradiographischen Untersuchung eine normale Zahl von Reifeteilungen. Die Proliferationsrate der Erythroblasten ist auf die Hälfte des Normalwertes gesenkt. Die Generationsfolge verlangsamt sich hauptsächlich im Stadium der oxyphilen und polychromatischen Erythroblasten. Nach einer autoradiographischen Untersuchung von HERSHKO et al. (1970) ist der DNS- Gehalt und der DNS- Einbau in die Erythroblasten gesenkt.

2. Bei der sideroachrestischen Anämie läuft nach einer Untersuchung von BOLL et al. (1971) mit einer Colchizin- Block- Methode eine normale Zahl von Reifeteilungen ab. Auch bei dieser Anämieform ist der Prozentsatz DNS- produzierender Zellen vermindert (autoradiographische Untersuchungen von WICKRAMASINGHE et al. 1968, HUBER et al. 1972, cytophotometrisch- autoradiographische Untersuchung von FISCHER et al. 1974). Nach DÖRMER (1974) ist die Proliferationsrate der einzelnen erythropoetischen Zelle normal bis leicht erhöht. Die Ausreifung zu den oxyphilen Erythroblasten ist ungewöhnlich stark verzögert.

3. Bei der perniciösen Anämie ist nach DÖRMER (1974) die Zahl der Reifeteilungen vermindert, nach einer Untersuchung von BOLL et al. (1971) jedoch vermehrt. Nach der autoradiographischen Untersuchung von DÖRMER(1974) ist die Produktionsrate der Megaloblasten insgesamt etwas vermehrt, die Proliferationsrate des einzelnen Erythroblasten scheint ziemlich reduziert. Ein Arrest der Zellproliferation wird in allen Stadien beobachtet (autoradiographische Untersuchung von WICKRAMASINGHE 1972, cytophotometrisch- autoradiographische Untersuchung von YOSHIDA et al. 1968).

Zusammenfassend muß man nach der vorliegenden Untersuchung annehmen, daß bei allen Anämieformen zum Teil vermindert Reifeteilungen ablaufen. Dies gilt insbesondere für die Eisenmangelanämie.

c. Ribonukleinsäuresynthese

Wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) steigt mit zunehmendem Kern- DNS (+ RNS)-Gehalt auch der zytoplasmatische RNS- Gehalt an. Dabei bilden wie normal die größten Erythroblasten am meisten RNS bei der sideroachrestischen und perniciösen Anämie. Im Gegensatz dazu ist jedoch bei der Eisenmangelanämie der RNS- Anstieg im Zytoplasma der kleineren Erythroblasten größer.

Quantitativ erfolgt bei der Eisenmangelanämie der interphasische RNS- Anstieg im Zytoplasma der großen Erythroblasten ähnlich wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973). Bei den kleineren Erythroblasten der Eisenmangelanämie ist der RNS- Anstieg jedoch größer. Bei der sideroachrestischen Anämie steigt der RNS- Gehalt des Zytoplasmas in der größten Zellgruppe bis auf das Doppelte und bei der perniciösen Anämie in der größten Zellgruppe bis auf das Fünffache des Normalen an.
In der Literatur findet man über die Höhe des RNS- Gehalts bei den einzelnen Anämien folgendes:
1. Bei der Eisenmangelanämie ist nach einer autoradiographischen Untersuchung von JAROSHEWSKY et al. (1968) die RNS- Synthese vermindert. Dies ist die Folge einer verminderten Syntheseaktivität der Erythroblasten. Nach einer autoradiographischen Untersuchung von HERSHKO et al. aus dem Jahre 1970 ist der RNS- Gehalt ebenfalls vermindert. Der Autor diskutiert einen intrazellulären RNS- Abfall wegen der Auflösung von Polyribosomen im Zellplasma. Diese Theorie wird dadurch gestützt, daß durch die Eisenverarmung auch Enzyme in der äußeren Zellmembran geschädigt werden, wodurch es zur Auflösung (Hämolyse) von Blutkörperchen kommt (ÖSMYLU 1973).

2. Bei der sideroachrestischen Anämie finden sich wenig Angaben über den RNS- Gehalt. Lediglich bei der Thalassämie, die nach HEILMEYER (1959) und STICH (1973) zur großen Gruppe der sideroachrestischen Anämie gerechnet wird, beschreiben MÜLLER et al. (1974) einen gegenüber der normalen Erythropoese herabgesetzten RNS- Gehalt. Hier ist die ß- Ketten- m- RNS in ihrer Sequenz verändert oder fehlt ganz (ANDERSON 1972).

3. Bei der perniciösen Anämie ist infolge des gestörten Einkohlenstoffwechsels die DNS- Reduplikation defekt (BOCK et al. 1967). Dadurch ist die RNS im Verhältnis zur DNS vermehrt (BECK 1964). Eine RNS- Persistenz, wie sie THORELL (1947) aufgrund zytophotometrischer Messungen bei der perniciösen Anämie vermutet, bestätigt sich bei dem untersuchten Patienten nicht. Vielmehr nimmt wie normal der RNS- Gehalt von den größeren zu den kleineren Korngrößengruppen, also mit der Generationenfolge, deutlich ab.

Bei der Eisenmangelanämie, der sideroachrestischen und der perniciösen Anämie ist der Spiegel des Erythropoietins im Urin erhöht (McCLURE et al. 1968, ESSERS et al. 1971, FINNE et al. 1973). Die erste meßbare Wirkung des Erythropoietins ist eine erhöhte RNS- Produktion (GROSS et al. 1972, TERADA et al. 1972). Danach wird die DNS- Produktion gesteigert (KRANTZ 1973). Auch die Hämoglobinproduktion steigt an (NECHELS et al. 1968). Man müßte also aufgrund des erhöhten Erythropoietinsspiegels in allen drei Fällen eine erhöhte RNS-Produktion feststellen können.

Dies ist aber bei den untersuchten Fällen nicht immer so. Zusammenfassend erfolgt bei der Eisenmangelanämie der interphasische RNS- Anstieg im Zytoplasma der großen Erythroblasten ähnlich wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973). Bei der sideroachrestischen Anämie steigt er bei den großen Erythroblasten bis auf das Doppelte und bei der perniciösen Anämie bei den großen Megaloblasten bis auf das Fünffache des normalen zytoplasmatischen RNS- Gehaltes an.

d. Hämoglobinsynthese

Wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) steigt bei der sideroachrestischen und perniciösen Anämie der Hämoglobingehalt mit zunehmendem Kern- DNS (+ RNS)- Gehalt an. In den mittelgroßen Erythroblasten steigt das Hämoglobin in der Interphase am stärksten. Bei der Eisenmangelanämie erfolgt jedoch der größte Hämoglobinanstieg bei den größten Erythroblasten: hier scheint das bereitstehende Eisen schon von den Erythroblasten der ersten Generation verbraucht zu sein.

Quantitativ erfolgt die interphasische Hämoglobinneubildung bei der Eisenmangelanämie v e r m i n d e r t , bei der sideroachrestischen Anämie ä h n l i c h und bei der perniciösen Anämie v e r s t ä r k t im Vergleich zur normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973).

In der Literatur findet man über den Hämoglobingehalt bei den einzelnen Anämiearten folgendes:
1. Bei der Eisenmangelanämie und auch bei der sideroachrestischen Anämie ist die Porphyrinsynthese (PALMA- CARLOS et al. 1969) und die Synthese der α - Globuline (BEN- BASSAT et al. 1974, WHITE et al. 1971) vermindert. Nach HERSHKO et al. (1970) ist bei der Eisenmangelanämie die Ausnützung des inkorporierten Eisens und der Glycin- Einbau in das Häm, und damit die Hämoglobinsynthese vermindert. Auch nach THORELL (1947) ist bei der Eisenmangelanämie die Hämoglobinbildung stark vermindert.
2. Bei der perniciösen Anämie wird von THORELL (1947) eine leicht verminderte Hämoglobinbildung beschrieben. HEILMEYER und Mitarb. (1964) diskutieren eine sideroachrestische Komponente. Dagegen erscheint in der vorliegenden Untersuchung die Hämoglobinbildung bei der perniciösen Anämie eindeutig verstärkt.

e. Hämoglobinsynthese in der G 1 - Phase kleiner Erythroblasten

In der G 0 - G 1 - Phase kleiner Erythroblasten ist in allen Fällen der Hämoglobingehalt bei einzelnen Zellen höher als in der G 2 - Phase. Dort wird ein kritischer Hb- Gehalt / μm^2 Zytoplasma von 0,4 bis $0{,}5 \times 10^{-12}$ g / μm^2 in keinem Fall überschritten. Da danach keine weiteren Reifeteilungen mehr ablaufen und die Generationenfolge der Erythropoese zu Ende ist (STOHLMAN et al. 1968), läßt dies den Schluß zu: nach Durchlaufen der Generationenfolge wird in der G1-Phase kleiner Erythroblasten noch einmal Hämoglobin gebildet. Dieses Verhalten ist auch bei der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) beschrieben.

F. Z U S A M M E N F A S S U N G

Erythroblasten je eines Patienten mit einer Eisenmangelanämie, einer sideroachrestischen Anämie und einer perniciösen Anämie wurden ultraviolettspektrophotometrisch untersucht.

Die Stammzellumwandlung in morphologisch erkennbare rote Vorstufen scheint demnach in große und teilweise auch in kleinere Erythroblasten während der G 1 - Phase zu erfolgen.

Bei sideroachrestischer und perniciöser Anämie wird von den Erythroblasten der G 2 - Phase eine kritische Hämoglobinkonzentration wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) nicht überschritten. Diese liegt dagegen bei der Eisenmangelanämie etwas niedriger als normal, aber höher als bei hämolytischer Anämie und Thalassämie (MÜLLER et al. 1974).

Es ist wahrscheinlich, daß in allen Fällen einzelne Erythroblasten bereits nach einer verminderten Zahl von Reifungsstufen entkernt und ausgeschwemmt werden. Dies muß insbesondere für die Eisenmangelanämie angenommen werden, was dem Regulationsmodell von STOHLMAN et al. (1968) widerspricht.

Wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) bilden bei der sideroachrestischen und der perniciösen Anämie die größten Erythroblasten in der S- Phase am meisten zytoplasmatisches RNS. Die stärkste interphasische Hämoglobinneubildung erfolgt in den mittelgroßen Erythroblasten. Dagegen zeigt die Eisenmangelanämie gegenüber der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) ein abweichendes

Verhalten: Bei ihr ist der RNS- Anstieg im Zytoplasma der kleineren Erythroblasten am größten. Die größte interphasische Hämoglobinneubildung erfolgt bei den größten Erythroblasten. Quantitativ erfolgt der interphasische RNS- Anstieg im Zytoplasma der großen Erythroblasten bei der Eisenmangelanämie ähnlich wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973). Dagegen steigt der Zytoplasma- RNS- Wert in der Interphase bei der sideroachrestischen Anämie bis zum Doppelten und bei der perniciösen Anämie bis zum Fünffachen an.

Die interphasische Hämoglobinneubildung erfolgt bei der Eisenmangelanämie größenmäßig vermindert, bei der sideroachrestischen Anämie ähnlich und bei der perniciösen Anämie verstärkt im Vergleich zur normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973).

Wie in der normalen Erythropoese (MÜLLER et al. 1973) erfolgt in der G 1 - Phase kleiner Erythroblasten in allen Fällen noch eine weitere Hämoglobinsynthese.

G. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ANDERSON, W.F.: The Role of Initiation Factors in Hemoglobin Synthesis; in Synthese, Struktur und Funktion des Hämoglobins. S. 109 - 132. München: Lehmann 1972.

2. BECK, W.S.: The Metabolic Basis of Megaloblastic Erythropoiesis. Medicine (Baltimore) 43: 715 - 726 (1964).

3. BEN-BASSAT, I., MOZEL, M. and RAMOT B.: Globin Synthesis in Iron-deficiency Anemia. Blood 44: 551-555 (1974).

4. BOCK H.E., HARTJE J., MÜLLER D. und WILMANS W.: Thyminnukleotidsynthese und Proliferation von Knochenmarkszellen bei megaloblastären Anämien unter der Einwirkung von Vitamin B 12. Klin. Wschr. 45: 176-188 (1967).

5. BOLL I.T.M.: A Quantitative Kinetic Model of Human Erythropoiesis. Hämatologie und Bluttransfusion 10: 9-12 (1972).

6. BOLL I.T.M. and KOENIGS H.P.:
The Kinetics of the Normal, the Megaloblastic and the Sideroachrestic Erythropoiesis, Estimated by Colchizine Blocking in vitro.
Blood 37: 204-210 (1971).

7. DÖRMER P.:
Kinetics of Erythropoietic Cell Proliferation in Normal and Anemic Man. A New Approach Using ^{14}C-Autoradiography. Progr. Histochem. Cytochem.
6: 1-81 (1974).

8. ESSERS U. und MANN H.:
Die Erythropoietinaktivität des Blutes bei Anämie mit hypoplastischem und hyperplastischem Knochenmark.
Blut 22: 297-305 (1971).

9. FINNE P.H., SKOGLUND R. and WETTERHUS S.:
Urinary Erythropoietin Excretion During Initial Treatment of Pernicious Anaemia. Scand. J. Haemat.
10: 62-68 (1973).

10. FISCHER M., MITROU P.S. and HÜBNER K.:
Proliferation of Erythroblasts in Refractory Anaemia. Acta haemat.
52: 257-264 (1974).

11. FRIED W.: Erythropoietin. Arch Intern Med. 131: 929-938 (1973).

12. GROSS M. and GOLDWASSER E.: On the Mechanism of Erythropoietin-Induced Differentiation. 11. Stimulated RNA Synthesis Independent of Protein Synthesis. Biochim. Biophys. Acta 287: 514-519 (1972).

13. HEGEMANN F.: Wirkung von Erythropoietin auf die DNS-Synthese-Geschwindigkeit differenzierender erythropoietischer Knochenmarkszellen. Diss. München 1974.

14. HEILMEYER L.: Die sideroachrestischen Anämien. Dtsch. Med. Wschr. 84: 1761 (1959).

15. HEILMEYER L., CLOTTEN R., KERP L., MERKER H., PARRA C.A. und WETZEL H.P.: Die Störungen der Bluthämsynthese. Stuttgart 1964.

16. HERSHKO Ch., KARSAI A., EYLON L. and IZAK G.:
The Effect of Chronic Iron Deficiency on Some Biochemical Functions of the Human Hemopoietic Tissue.
Blood 36: 321-329 (1970).

17. HUBER Ch., HUBER H., STACHER A. und BRAUNSTEINER H.:
Autoradiographisch- zytophotometrische Untersuchungen zur Hämatopoese primär refraktärer und sideroachrestischer Anämien.
Blut 24 : 142-152 (1972).

18. JAROSHEVSKY A.J., PLOTKIN V.J. and SHEKTER C.J.:
DNA-synthesis by Erythroblasts in Normal Man and in Some Disorders of Erythropoiesis.
Acta haemat. 40: 315-321 (1968).

19. KRANTZ S.B.:
Recent Contributions to the Mechanism of Action and Clinical Relevance of Erythropoietin.
J.Lab.Clin.Med. 82: 847-857 (1973).

20. LINDEMANN R.:
Erythropoiesis Inhibiting Factor (EIF).1. Fractionation and Demonstration of Urinary EIF. Brit.J.Haemat. 21: 623-631 (1971).

21. McCLURE P.D. and SUN I. CHOI:
Thrombopoietin and Erythropoietin Levels in Idiopathic Thrombozytopenic Purpura and Iron Deficiency Anaemia. Brit. J. Haemat. 21: 623-631 (1971).

22. MÜLLER D., LAUTERBACH H. und LEBHERZ R.:
Quantitative Methoden zum Nachweis der Ribonukleoproteine im ultravioletten Spektralbereich.
Acta histochemica, Suppl.-Bd. 12:S. 27-29 (1972).

23. MÜLLER D., BOLL M. und HAHN E.:
Synthese von Hämoglobin, DNS und RNS bei hämolytischer Anämie, Thalassämie und akuter Blutungsanämie.
Acta haemat. 51: 19-28 (1974).

24. MÜLLER D., LAUTERBACH H., POUILLON H.G. und HAHN E.:
Synthese von Hämoglobin, RNS und Proteinen in der normalen Erythropoese.
Acta haemat. 50: 340-349 (1973).

25. NECHELES Th. F., SHEEHAN R.G. and MEYER H.J.:
Studies on the Control of Hemoglobin Synthesis: Nucleic Acid Synthesis and Normoblast Proliferation in the Presence of Erythropoietin.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 149: 449-455 (1968).

26. OZSOYLU S.:
Depletion of Iron-Containing Enzymes in Iron Deficiency Anemia.
J.Pediat. 82: 168 (1973).

27. PALMA-CARLOS A.C.yL., LOURENCO da GRACA, SOARES A.D.:
La sintesis de los precursores del heme hemoglobinico en las anemias ferropenicas y sideroachresticas.
Sangre 14: 165-174 (1969).

28. PAUKOVITS W.R.:
Chalone. Endogene Inhibitoren der Zellteilung?
Blut 27: 217-222 (1973).

29. SANDRITTER W.:
Ultraviolettspektrophotometrie. in:
Handbuch der Histochemie (Hrsg.: Graumann W., Neumann K.) Vol 1/1: 220-338
Stuttgart: Fischer 1958.

30. SANDRITTER W., MÜLLER D., GENSECKE O.:
Ultraviolettspektrophotometrische Messungen des Nukleinsäurengehalts von Spermien und diploiden Zellen.
Acta histochem. (Jena) 10: 139-154 (1960).

31. SEGAL R., IZAK G. and FELDMAN S.:
The Effect of Electrical Stimulation of the Hypothalamus on Red Cell Production and Destruction in the Rat. in: Mathoth Y. (Hrsg.): Erythropoiesis, Regulatory Mechanism and Development Aspects. Proceedings of the The Tel Aviv University Conference on Erythropoiesis, 27 to 29 July 1970. Petah Tikva S. 195-201. New York/London: Academic Press 1970.

32. SHEKTER S.Y.:
A Possibility of Formation of Erythropoiesis Inhibitors in Iron Deficiency Anemia.
Probl. gemat. i per. krovi 17: 31-34 (1972).

33. STICH W.: Diagnose und Therapie der Eisenmangelanämien und sideroachrestischen Anämien. Münch.Med.Wschr. 115: 481-487 (1973).

34. STOHLMAN F.jr., EBBE S., MORSE B., HOWARD D. and DONOVAN J.: Regulation of Erythropoiesis. 20. Kinetics of Red Cell Production. Ann.N.Y. Acad.Sci 149: 156-172 (1968).

35. TERADA M., CANTOR L., METAFORA M., RIFKIND R.A., BANK A. and MARKS P.A.: Globin Messenger RNA Activity in Erythroid Precursor Cells and the Effect of Erythropoietin. Proc.Nat.Acad.Sci.USA 69: 3575-3579 (1968).

36. THORELL B.: Studies on the Formation of Cellular Substances during Blood Cell Production. Acta Med. Scand. Suppl. 200: 1-120 (1947).

37. WHITE I.M., BRAIN M.C. and ALI M.A.M.:
Globin-synthesis in Sideroblastic Anaemia. 1. α and ß Peptide Chain Synthesis. Brit.J.Haemat. 20: 263 (1971).

38. WICKRAMASINGHE S.N.:
Kinetics and Morphology of Haemopoiesis in Pernicious Anaemia. Brit.J.Haemat. 22: 111-115 (1972).

39. WICKRAMASINGHE S.N., CHALMERS D.G. and COOPER E.H.:
A Study of Ineffective Erythropoiesis in Sideroblastic Anaemia and Erythraemic Myelosis. Cell Tissue Kinet. 1: 43-50 (1968).

40. YOSHIDA Y., TODO A., SHIRAKAWA S., WAKISAKA G. and UCHINO H.:
Proliferation of Megaloblasts in Pernicious Anaemia as Observed from Nucleic Acid Metabolism. Blood 31: 292-301 (1968).

41. ZALUSKY R., ZANJANI E.D., GIDARI A.S. and ROSS J.:
Site of Action of a Serum Inhibitor of Erythropoiesis. J.Lab.Clin.Med. 81: 867 (1973).

42. ZIVNY J., NECAS E.: Regulation of Erythropoiesis: An Attempt to Demonstrate the Existence of an Inhibitor of Erythropoiesis. Physiol. bohemoslov. 21: 33-39 (1972).

D A N K

Für die Überlassung des Themas und die gute Betreuung während seiner Tübinger und Hofer Zeit, bin ich Herrn Professor Dr. D. Müller, Leitender Arzt im Städtischen Krankenhaus Hof an der Saale, sehr zu Dank verpflichtet.

Die Präparate der sideroachrestischen Anämie verdanke ich der Vermittlung von Herrn Dr. W. Brinkmann vom Institut für Hämatologie in München.

Mit Rat und Tat war Frl. M. Boll im Labor der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen stets zu Hilfe.

Sehr zu Dank verpflichtet bin ich auch Herrn Diplommathemathiker E. Hahn vom Zentrum für Datenverarbeitung der Universität Tübingen, der die Auswertung der gemessenen Werte mit dem Computer besorgte.

Frau I. Schmied, Ellwangen, fertigte die Maschinenschrift dieser Arbeit an.

Last not least danke ich meinen Eltern für ihre stetige Unterstützung während meiner Studienzeit.

L E B E N S L A U F

Am 23. Mai 1949 wurde ich, Lothar Mack, als Sohn des Notars Paul Mack und seiner Frau Zita geb. Frankenreiter in Schwäbisch Gmünd geboren. Meine Kindheit und die ersten Schuljahre verbrachte ich in Nufringen Kreis Böblingen. Nach dem Umzug der Eltern nach Ellwangen (Jagst) im Ostalbkreis besuchte ich dort das humanistische Peutinger- Gymnasium. Im Anschluß an das Abitur im Jahre 1968 war ich zunächst bei der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, als Kaufmännischer Praktikant beschäftigt. Dann rückte ich ein Jahr zur Bundeswehr ein.
Vom Sommersemester 1970 ab studierte ich an der Universität Tübingen Medizin.
Das Staatsexamen legte ich dort am 8. Juli 1976 ab.